



## Biocontrol de *Alternaria solani* y *A. alternata* en el cultivo de papa con *Trichoderma harzianum*

Ariel Jesús Faberi<sup>1\*</sup>, María Clara Sanchez<sup>2</sup>, Nelson Medardo Pérez Ramirez<sup>3</sup>, Martín Hansen<sup>4</sup>

### Resumen

El control químico es la principal estrategia de manejo del tizón temprano de la papa, causado por *Alternaria solani* y *A. alternata*. Objetivo: evaluar la eficiencia de biocontrol de *Trichoderma harzianum* sobre *A. solani* y *A. alternata* y comprender sus mecanismos de acción. Se evaluó la inhibición de *T. harzianum* sobre *A. solani* y *A. alternata* mediante cultivos duales creciendo en la misma placa o en placas enfrentadas, midiendo el crecimiento radial de las colonias. Se realizaron ensayos en invernáculo, diseño en bloques completos aleatorizados, 12 repeticiones. Se inocularon las plantas de papa con suspensiones de conidios de *A. solani* o *A. alternata* entre 70 y 84 días después de la plantación (DDP). Tratamientos: testigo inoculado; *T. harzianum* aplicado a los 60 y 75DDP (*Th*\_60-75); *T. harzianum* aplicado semanalmente a partir de 45DDP (*Th*\_semanal) y boscalid+piraclostrobina a los 60 y 75DDP (Tqco\_60-75). Se determinó incidencia en hoja y se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE). Las colonias de *Alternaria* spp. creciendo con *T. harzianum* tuvieron menor diámetro, menor tasa de crecimiento y coloración más oscura respecto de los testigos. En invernáculo se observaron diferencias en incidencia y ABCPE entre los tratamientos con *T. harzianum* respecto del testigo, siendo menor en algunas determinaciones. El ABCPE en *Th*\_semanal fue similar Tqco\_60-75 para *A. solani*, mientras que para *A. alternata* *Th*\_60-75 fue similar a Tqco\_60-75. Se evidenciaron efectos promisorios en la protección del cultivo de papa con *T. harzianum* frente a *A. solani* y *A. alternata*.

**Palabras clave adicionales:** Control biológico, Tizón temprano, Fungicidas, *Solanum tuberosum*.

---

\* Autor de Contacto: faberi.ariel@inta.gob.ar

<sup>1</sup> Ariel Jesús Faberi  Facultad De Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata

<sup>2</sup> María Clara Sanchez  Facultad De Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata

<sup>3</sup> Nelson Medardo Pérez Ramirez  Facultad De Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata

<sup>4</sup> Martín Hansen  Facultad De Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata



## Summary

### Biocontrol of *Alternaria solani* y *A. alternata* in potato crop with *Trichoderma harzianum*

Chemical control is the main management strategy for potato early blight, caused by *Alternaria solani* and *A. alternata*. The aim was to evaluate the efficacy of biocontrol of *Trichoderma harzianum* against *A. alternata* and *A. solani* and to understand their mechanisms of action. The inhibition of *T. harzianum* on *A. solani* and *A. alternata* was evaluated by means of dual cultures growing on the same plate or on facing plates, measuring the radial growth of the colonies. Greenhouse experiments were conducted in a randomized complete plot design with 12 replicates. Potato plants were inoculated until run-off with conidial suspension between 70-84 days after crop planting (DAP). Treatments: T1=inoculated control, T2=*T. harzianum* application at 60 and 75DAP, T3=*T. harzianum* applied weekly from 45DAP, T4=boscalid+piraclostrobin application at 60 and 75DAP. Leaf incidence was evaluated and the area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated. Colonies of *Alternaria* spp. growing with *T. harzianum* had a smaller diameter, lower growth rate and darker color compared to the controls. In the greenhouse, differences in incidence and AUCPE were observed between the treatments with *T. harzianum* with respect to the control, being lower in some determinations. The AUDPC was similar in T3 and T4 in *A. solani*, while T4 was similar to T2 in *A. alternata*. This results are promissory to protection of potato crop from *A. solani* y *A. alternata* with *T. harzianum*.

**Additional keywords:** Biological control, Early blight, Fungicides, *Solanum tuberosum*.

## Introducción

En Argentina, se cultiva papa en la mayoría de las provincias debido a que se adapta a las diferentes regiones agroclimáticas. El sudeste de la provincia de Buenos Aires es una de las regiones de producción más importantes, representando el 47 % de la producción nacional, con 32.898 ha (2019/20) y un rendimiento promedio de 40 t/ha (Argenpapa, 2020).

Entre las principales enfermedades del cultivo de papa se menciona al tizón temprano de la papa (Pérez y Forbes, 2011). Es ocasionado por varias especies del género *Alternaria*, siendo históricamente *A. solani* la especie prevalente, aunque en la actualidad *A. alternata* se presenta frecuentemente en el sudeste de Buenos Aires (Peñalva, 2018).

Es una enfermedad policíclica que en condiciones ambientales favorables genera epidemias severas, ocasionando lesiones necróticas que terminan en defoliaciones. En estas situaciones, el tizón temprano ocasiona pérdidas de rendimiento de 30 % (Acuña *et al.*, 2019). La principal estrategia de manejo del tizón temprano es la aplicación preventiva de fungicidas. Los mismos se aplican preventivamente (mancozeb o clorotalonil) en estadios iniciales, y en momentos donde el riesgo de aparición de la enfermedad es más alto (60 – 80 días después de la plantación) se realizan dos aplicaciones de triazoles, estrobilurinas y/o carboxamidas. Estos tratamientos resultan efectivos, combinando efectos preventivos, curativos y antiesporulantes (Rolando *et al.*, 2015; Andreu *et al.*, 2017; Clemente *et al.*, 2021 Faberi, 2021).

No obstante, estas prácticas se asocian a un elevado impacto ambiental (Peñalva, 2018; Gaona *et al.*, 2019). Por otra parte, se ha reportado una disminución en la efectividad de los fungicidas en el control de tizón temprano (Monetti y Pedelini, 2013). Entre las causas de esta disminución, puede señalarse el surgimiento de poblaciones resistentes (Fairchild *et al.*, 2013) y la mayor prevalencia de *A. alternata* que presentan diferente sensibilidad a los fungicidas (Peñalva, 2018).

Es necesario desarrollar opciones al control químico que reduzcan el impacto ambiental y contribuyan a reducir la aparición de resistencias. El control biológico se menciona como una alternativa en varios patosistemas. Las especies del género *Trichoderma* poseen eficacia comprobada como hongos biocontroladores en el manejo de enfermedades de cultivos. Estos hongos pueden actuar bajo diferentes mecanismos de acción, como la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis sobre hongos fitopatógenos (Kumar *et al.*, 2017).

El principal éxito del género *Trichoderma*, al ser un hongo del suelo, ha sido el biocontrol de patógenos de la rizósfera (Venancio *et al.*, 2019). Sin embargo, la filósfera es un ambiente relativamente inestable para *Trichoderma*, y por lo tanto su potencial como biocontrolador de patógenos del follaje podría verse reducido (Meher *et al.*, 2020). No obstante, se han demostrado su éxito como biocontrolador de *Botrytis cinerea*, *Plasmopara viticola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cladosporium fulvum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Ramularia* sp. mediante aplicaciones al follaje (Sawant,

2014; Perazzolli *et al.*, 2011; Mazon *et al.*, 2019; Dias Suassuna *et al.*, 2019). De acuerdo a Bettioli *et al.* (2019) existen 246 productos registrados con *Trichoderma* para el control de diferentes enfermedades. Los estudios de *T. harzianum* como agente de control biológico de patógenos foliares si bien son promisorios, resultan escasos. El objetivo de este estudio fue evaluar el control y el/los efecto/s inhibitorio/s (mecanismos de acción) de *T. harzianum* sobre *A. solani* y *A. alternata*. Es necesario conocer su potencial uso como agente de control de ambos patógenos del cultivo de papa donde el uso de fungicidas orgánicos es muy frecuente.

## Materiales y Métodos

**Aislamiento y purificación de *Alternaria solani*, *A. alternata* y *Trichoderma harzianum*** *Alternaria solani* y *A. alternata* se aislaron a partir de material vegetal sintomático de papa en lotes en Balcarce (Buenos Aires, Argentina). Se tomaron fragmentos de tejido vegetal (5-10 mm) del margen de las lesiones, se desinfectaron en alcohol 70 % durante un minuto y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril. Se colocaron en cajas de Petri con medio Agar Papa Dextrosa y 0,1 g de Cloranfenicol (Bactericida) (APD+C). Se incubaron a 25 °C ± 2 en oscuridad durante cinco días. Los cultivos de *A. solani* y *A. alternata* se seleccionaron y purificaron en APD+C a partir de un conidio (cultivo monospórico). Para *T. harzianum* se sembró una gota de 10 uL de la formulación comercial cepa Th2 (Formulado líquido; 2 x 10<sup>8</sup> conidios/ml) en cajas de Petri con medio APD+C, y se incubaron a 25 °C ± 2 por 7 días.

### **Evaluación del efecto inhibitorio de *Trichoderma harzianum* sobre *Alternaria solani* y *A. alternata* in vitro**

Se realizaron dos ensayos utilizando la técnica *in vitro* de cultivos duales en un diseño completamente aleatorizado con 4/5 repeticiones. Cada repetición consistió en tres cajas de Petri de 9 cm de diámetro (plástico estéril, 90x15mm gamma Greiner Bio-One), con APD+C. En el ensayo 1, *Alternaria* spp. y *T. harzianum* se sembraron sobre la misma placa para evaluar el efecto inhibitorio por competencia. En el ensayo 2, *Alternaria* spp. y *T. harzianum* se sembraron sobre placas diferentes y se enfrentaron para evitar el contacto físico y poder evaluar el efecto inhibitorio por compuestos volátiles.

Los tratamientos consistieron en: i) testigo cultivo de *T. harzianum*; ii) testigo cultivo de *A. solani*; iii) testigo cultivo de *A. alternata*; iv) cultivos de *T. harzianum* y *A. solani* creciendo juntos y, v) cultivos de *T. harzianum* y *A. alternata* creciendo juntos. Además, se agregó un testigo con APD+C donde no se sembró ni patógeno ni biocontrolador. Las placas se incubaron a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  en oscuridad (Crovo y Clemente, 2015).

A los 3, 6 y 9 días de incubación (DDI) se midió el crecimiento radial de cada colonia de los hongos y se observaron cambios en la coloración. En el ensayo 1, el crecimiento de *Alternaria* spp. se midió en el sentido de la colonia de *T. harzianum* (crecimiento A) y a  $90^{\circ}$  respecto del primero (crecimiento B). En el ensayo 2 se midió el crecimiento radial de las colonias de *Alternaria* spp. en dos direcciones perpendiculares entre sí. Se registraron cambios de color de las colonias de *Alternaria* spp. creciendo con *T. harzianum* respecto a las colonias de

*Alternaria* spp. creciendo solas. Se determinó la relación de crecimiento A:B. Para determinar la tasa de crecimiento se ajustaron modelos de regresión lineal simple entre crecimiento A y los DDI (considerando crecimiento 0 el día de inicio de incubación).

El crecimiento de A y la relación de crecimiento A:B, se analizaron mediante análisis de la varianza previa validación del supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ( $\alpha=0,05$ ). Se consideraron los efectos especie de *Alternaria*, los días de evaluación y los tratamientos. Cuando se hallaron efectos significativos, los promedios se compararon mediante la prueba de mínimas diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). La pendiente de las rectas de regresión (tasa de crecimiento) se compararon mediante variables indicadoras (dummy). Los análisis se realizaron con el programa R 3.4.3 (R Development Core Team, 2017).

### **Control de *Trichoderma harzianum* sobre *Alternaria solani* y *A. alternata* en plantas de papa**

La multiplicación de *A. solani* y *A. alternata* se realizó sobre el medio Agar Papa Zanahoria (APZ) e incubados a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ , en condiciones de alternancia de luz/oscuridad 12/12 h, durante 10 días. Luego, cada placa fue enjuagada tres veces con agua destilada estéril, de manera de recolectar los conidios. Este contenido se filtró en una tela de *voile* esterilizada sobre un *erlenmeyer* estéril para formar la suspensión de conidios de cada especie de *Alternaria*. Similarmente se procedió con *T. harzianum* pero se cultivó sobre el medio APD+C a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  en oscuridad. Se realizó el recuento de conidios mediante cámara de *Neubauer* para ajustar

la concentración de conidios antes de las inoculaciones.

Se realizaron dos ensayos en invernáculos diferentes, uno con *A. solani* y otro con *A. alternata* utilizando un diseño en bloques completos aleatorizados con 12 repeticiones. La unidad experimental (UE) consistió en macetas de 3 L con suelo tamizado y perlita (3:1). Se plantaron dos cortes de papa con al menos dos yemas var. Spunta en cada UE. Las macetas se regaron periódicamente para mantener el suelo húmedo durante todo el ensayo.

En los tratamientos con *T. harzianum* (**Tabla 1**) se utilizó un formulado comercial (líquido, 3,24 g/100 ml). En el tratamiento con fungicida orgánico se utilizó una formulación con boscalid+piraclostrobina (granulado dispersable, 25,2 y 12,8 %, respectivamente). La aplicación de los tratamientos se realizó con un pulverizador manual, planta por planta de manera que todas las hojas tengan contacto con gotas del correspondiente tratamiento.

**Tabla 1.** Tratamientos de control de *Alternaria solani* y *A. alternata* con *Trichoderma harzianum*. Los tratamientos 3 y 4 recibieron 600 mL/100 kg de papa semilla de *Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Inoculación con <i>Alternaria</i> sp.	Ingrediente activo	concentración/ dosis	Frecuencia aplicación fungicida (Días después de la plantación)
Testigo no inoculado "sano"	NO	---	---	---
Testigo inoculado "enfermo"	SI	---	---	---
<i>Trichoderma</i> 1	SI	<i>T. harzianum</i>	0,8g/L	60 y 75
<i>Trichoderma</i> 2	SI	<i>T. harzianum</i>	0,8g/L	45 y luego semanalmente
Testigo químico	SI	Boscalid + Pyraclostrobina	250g/ha	60 y 75

Las suspensiones de inóculos de cada especie de *Alternaria* se realizó sobre plantas en las que removieron hojas secas o dañadas y se humedecieron los tejidos foliares con agua destilada estéril (H<sub>2</sub>O d.e.) mediante la utilización de un asperjador. En el ensayo de *A. solani* se

realizaron inoculaciones a los 78 y 84 días después de la plantación (DDP) con suspensiones de  $6 \times 10^5$  y  $5,5 \times 10^5$  conidios/ml. Con *A. alternata* se realizaron inoculaciones a los 70, 78 y 84 DDP, con suspensiones de  $1 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^5$  y  $1 \times 10^4$  conidios/ml. A cada suspensión de

inóculo se le agregó 0,5 % de Tween 20. Cada inoculación se realizó después de las 16 h, con un pulverizador manual, asperjando hasta punto de goteo. Luego cada UE se cubrió por 48 horas con una bolsa plástica para favorecer la infección de *Alternaria* spp.

Se determinó la incidencia en hoja de *A. solani* y *A. alternata* como el número de hojas con síntomas sobre el total de hojas de cada UE. La severidad se evaluó a los 96 DDP contando el número de manchas por foliolo terminal. Se calculó el promedio de manchas por foliolo en cada UE, considerando aquellas UE que tenían al menos 5 hojas por planta. El área bajo la curva de progreso de enfermedad (ABCPE) se determinó mediante la fórmula:

$$ABCPE = \sum [(I_{i+1} + I_i)/2] * [t_{i+1} - t_i]$$

Dónde:  $(I_{i+1} + I_i)/2$ : promedio de incidencia en hoja entre dos evaluaciones sucesivas.  $(t_{i+1} - t_i)$ : intervalo de tiempo en días entre dos evaluaciones sucesivas.

La incidencia en cada evaluación, la severidad y el ABCPE se analizaron mediante análisis de varianza previa validación del supuesto de homogeneidad de varianzas realizando la prueba de Levene ( $\alpha=0,05$ ). En caso de hallarse efectos significativos se realizó la prueba de mínimas diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). Los análisis se realizaron con el programa R 3.4.3 (R Development Core Team, 2017).

## Resultados y Discusión

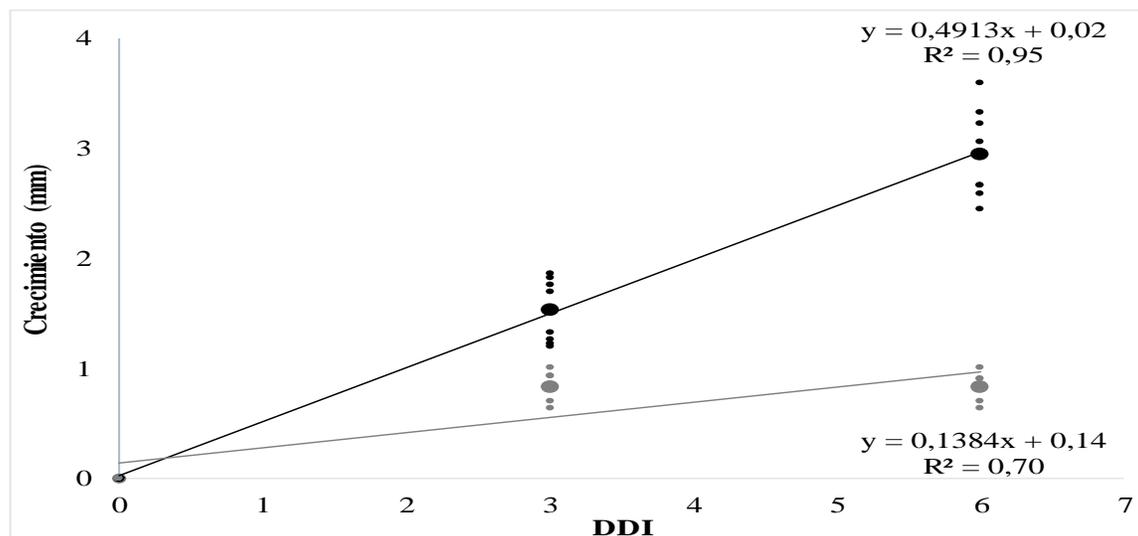
### Efecto inhibitorio de *Trichoderma harzianum* sobre *Alternaria solani* y *A.*

#### *alternata* crecimiento *in vitro* sobre la misma placa

El crecimiento radial de *Alternaria* spp., frente a *T. harzianum*, no presentó efecto de interacción entre especie, tratamiento y fecha de evaluación ( $p = 0,7955$ ). Se observó efecto de interacción entre tratamiento y fechas ( $p = 1,857 \times 10^{-7}$ ). A los 3 DDI el patógeno creció casi el doble (1,52 mm) cuando se incubó solo respecto a cuándo se incubó creciendo junto con *T. harzianum* (0,84 mm). La magnitud en las diferencias de crecimiento se incrementó entre ambas fechas de evaluación, a los 3 DDI fue de 0,68 mm y a los 6 DDI, 2,12 mm (**Figura 1**).

Esto demuestra un efecto de inhibitorio de *T. harzianum*, quien limitó el crecimiento de *Alternaria* spp. Esta agresividad en la colonización del sustrato, fue determinada por la mayor velocidad de crecimiento observada en *T. harzianum*, con respecto a *Alternaria* spp. Abo-Elyousr *et al.* (2014) demostraron que *T. harzianum* compite por el sustrato, causando una tasa de inhibición de *Alternaria porri* del 73,12 %. Este efecto que ejerce *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp. se asocia a uno de sus mecanismos de acción, la competencia por espacio. *Trichoderma* spp. tiene versatilidad metabólica pudiendo crecer en una amplia gama de recursos.

La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico (Monte *et al.*, 2019). *T. harzianum* tiene también la capacidad de reducir la secreción de enzimas producidas por el patógeno.



**Figura 1.** Crecimiento radial (milímetros) de *Alternaria* spp. creciendo solo (línea negra) y creciendo con *Trichoderma harzianum* (línea gris) en función de los días de incubación (DDI).

La relación de crecimiento A:B presentó efecto de tratamiento ( $p= 1,4 \times 10^{-7}$ ). *Alternaria* spp. creció homogéneamente en todas las direcciones sin la presencia de *T. harzianum* (relación A:B = 1,026) y fue significativamente diferente cuando creció con *T. harzianum* donde la relación se redujo a 0,810. Es decir, que la presencia de micelio de *T. harzianum* limitó el crecimiento de las colonias de *Alternaria* spp. al enfrentarse de manera directa. La colonia pudo seguir creciendo en sentido lateral, hasta que fue completamente rodeada por el biocontrolador. Esto confirma el efecto de competencia por espacio de *T. harzianum* sobre *Alternaria* spp.

La tasa de crecimiento del cultivo de *Alternaria* spp. fue de 0,49 mm por día en ausencia del biocontrolador (**Figura 1**). Esta tasa de crecimiento fue significativamente mayor que cuando *Alternaria* spp. creció con *T. harzianum*, 0,13 mm por día ( $p= 2,96 \times 10^{-7}$ ).

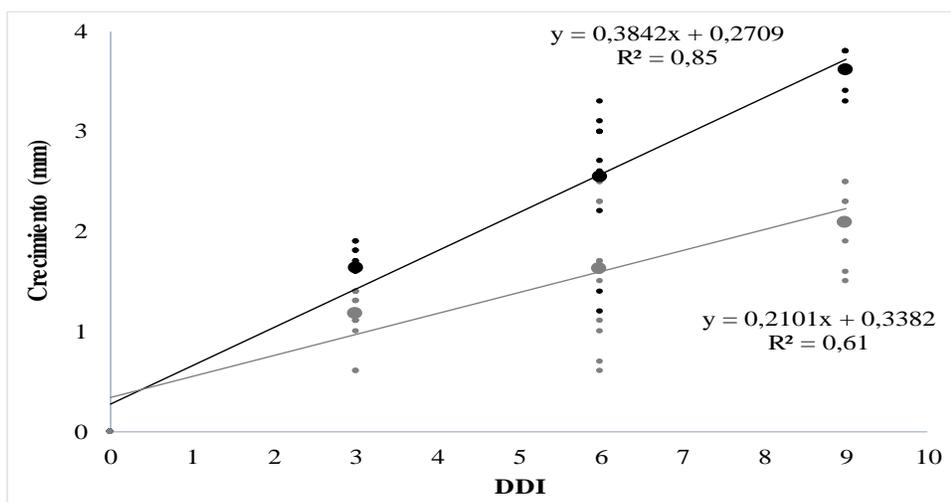
Las colonias de *Alternaria* spp. creciendo junto con *T. harzianum* presentaron cambios de coloración entre los 6 y los 9 DDI. La colonia de *Alternaria* spp. no solo redujo su tamaño cuando se enfrentó a *T. harzianum*, sino que adquirió un color marrón/amarillento. En los preparados realizados y observados bajo microscopio óptico, se observaron áreas necrosadas del micelio de *Alternaria* spp. Estos cambios se pueden asociar a la degradación de las paredes celulares y posterior necrosis (Kumar *et al.*, 2017). *Trichoderma harzianum* presenta un excesivo crecimiento del micelio sobre colonia de *A. porri* y enrollamiento espiralado de los micelios ejerciendo el efecto parasítico (Abo-Elyousr *et al.*, 2014).

#### **Efecto inhibitorio de *Trichoderma harzianum* sobre *Alternaria solani* y *A. alternata* creciendo *in vitro* sobre placas enfrentadas**

Se observó efecto de interacción entre tratamiento y fecha de evaluación en el crecimiento radial ( $p= 0,037$ ) no

hallándose interacción triple con la especie de *Alternaria* ( $p=0,982$ ). En las tres fechas de evaluación, la colonia de *Alternaria* spp. creciendo sola tuvo mayor crecimiento que cuando se enfrentó a *T. harzianum*, ampliándose las diferencias de crecimiento en las evaluaciones sucesivas (**Figura 2**). En la primera fecha la diferencia fue de 0,47 mm, en la segunda 0,93 mm y en la tercera 1,54 mm. Esto demuestra que el biocontrolador inhibió el crecimiento de *Alternaria* spp. debido a la liberación de compuestos volátiles. La antibiosis es uno de los mecanismos de

acción de *Trichoderma* spp., que a través de la producción de metabolitos secundarios, entre éstos, compuestos volátiles como la pirona (6-pentil-2H-piran-2-ona (6-PP)), genera un efecto antifúngico degradando las paredes celulares (Kumar *et al.*, 2017). *Alternaria* spp. creciendo frente a *T. harzianum* tuvo una tasa de crecimiento menor respecto a *Alternaria* spp. cuando se cultiva sola ( $p=0,0001$ ). El testigo de *Alternaria* spp. creció 0,38 mm/día mientras que cuando se enfrentó al biocontrolador creció 0,21 mm/día (**Figura 2**).



**Figura 2.** Crecimiento radial (milímetros) de *Alternaria* spp. creciendo solo (línea negra) y creciendo enfrentado sin contacto físico con *Trichoderma harzianum* (línea gris) en función de los días de incubación (DDI).

### Control de *Alternaria alternata* con *Trichoderma harzianum*

En la primera fecha de evaluación, la incidencia en hoja varió entre 7,2 y 24,9 % y no se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $p = 0,069$ ). A los 67 días después de la emergencia (DDE), se encontraron diferencias entre tratamientos

( $p = 0,00007$ ) (**Tabla 2**). El testigo “enfermo” inoculado con *A. alternata* presentó la mayor incidencia, la cual fue similar al tratamiento de aplicación semanal de *T. harzianum* ( $p > 0,05$ ). Los tratamientos con *T. harzianum* a los 45 y 60 días y testigo químico presentaron menor incidencia que el testigo “enfermo”

**Tabla 2.** Incidencia en hoja y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de *Alternaria alternata* y *A. solani* en diferentes días después de la plantación (DDP) y con diferentes tratamientos. Testigo químico: Boscalid+Pyraclostrobina aplicado a los 60 y 75 DDE. ABCPE. Letras iguales en la misma columna indican diferencias no significativas entre tratamientos (prueba LSD;  $p > 0,05$ ).

Tratamiento	<i>Alternaria alternata</i>					<i>Alternaria solani</i>			
	DDP				ABCPE	DDP			ABCPE
	73	82	89	96		84	91	96	
<b>Testigo no inoculado</b>	15,1 a	21,1 c	57,0 b	74,0 a	419,85 bc	46,8 ab	59,6 bc	81,9 a	712,14 a
<b>Testigo inoculado</b>	24,9 a	64,7 a	88,2 a	82,2 a	838,43 a	61,1 a	86,9 a	82,1 a	860,08 a
<b><i>T. harzianum</i> 60 y 75 DDE</b>	13,6 a	38,6 bc	53,6 b	93,9 a	496,88 bc	27,2 c	70,4 ab	73,9 a	645,17 ab
<b><i>T. harzianum</i> 45 DDE/semanal</b>	13,3 a	46,9 ab	65,9 b	91,1 a	605,43 b	32,9 bc	67,4 ab	78,6 a	520,39 bc
<b>Testigo químico</b>	7,2 a	26,9 c	50,5 b	75,1 a	390,20 c	20,9 c	41,6 c	69,9 a	460,76 c

( $p < 0,05$ ). Estos últimos presentaron similar incidencia entre sí ( $p > 0,05$ ) y con el testigo “sano” no inoculado ( $p > 0,05$ ), indicando el efecto protector frente a *A. alternata*. A los 74 DDE, se encontraron diferencias entre tratamientos ( $p = 0,002$ ). El testigo inoculado tuvo la mayor incidencia en hoja y se diferenció de los restantes tratamientos (**Tabla 2**). Estos resultados indican que la aplicación de *T. harzianum* ocasiona un nivel de protección comparable al alcanzado por el tratamiento químico. En condiciones de campo, los tratamientos químicos con piraclostrobina + boscalid logran reducir la incidencia y severidad del tizón temprano (Faberri, 2021). El testigo “sano” no inoculado también presentó incidencia de la enfermedad, probablemente debido a infecciones secundarias. En la última evaluación, la incidencia no mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $p = 0,297$ ). En esta evaluación el cultivo se encontró senescente y con pérdida de hojas.

La severidad no presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $p = 0,297$ ). Los valores se encontraron en un rango entre 0,4 manchas de *A. alternata*/foliolo en el testigo químico, hasta 9,5 manchas *A. alternata*/foliolo en el testigo inoculado.

El ABCPE para *A. alternata* fue diferente entre los tratamientos evaluados ( $p = 0,0007$ ) (Tabla 2). El ABCPE mayor se obtuvo en el testigo inoculado, el cual se diferenció del resto de los tratamientos. Los tratamientos biológicos lograron proteger al cultivo, ya que se enfermaron menos a lo largo del ciclo, aún con presión elevada de inóculo. No obstante, solo el tratamiento con dos aplicaciones de *T. harzianum* a los 60 y 75 DDE mostró

similar ABCPE respecto al testigo químico y al testigo sin inocular.

### **Control de *Alternaria solani* con *Trichoderma harzianum***

Similarmente a lo observado en *A. alternata*, a los 69 DDE la incidencia de *A. solani* presentó diferencias entre tratamientos ( $p = 0,002$ ) (Tabla 2). El tratamiento con mayor incidencia fue el testigo “enfermo”, diferenciándose de los tratamientos biológicos y del químico, que tuvieron menor incidencia. Es decir que los dos tratamientos con *T. harzianum* generaron adecuado nivel de protección similar al testigo químico.

A partir de la segunda evaluación no se observó efecto de protección de los tratamientos con *T. harzianum* (Tabla 2). Si bien en la segunda evaluación se observaron diferencias entre tratamientos ( $p = 0,000919$ ), los tratamientos con *T. harzianum* presentaron similar incidencia respecto del testigo inoculado el cual mostró la mayor incidencia de *A. solani*. El testigo químico fue el único que logró tener menor incidencia respecto al testigo inoculado. En la última evaluación, 81 DDE, similarmente a lo observado con *A. alternata* no se observaron diferencias en incidencia entre tratamientos ( $p = 0,66$ ).

La severidad no presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $p = 0,183$ ). A los 81 DDE se encontraron en un rango entre 0,66 machas de *A. solani*/foliolo con dos aplicaciones de *T. harzianum*, hasta 14,4 machas de *A. solani*/foliolo en el testigo inoculado.

El ABCPE mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $p = 0,00211$ ), siendo menor en los tratamientos con aplicación semanal de *T. harzianum* y en el testigo químico (**Tabla**

2). El tratamiento con dos dosis de *T. harzianum* no logró diferenciarse del testigo inoculado, por lo que no logró una protección adecuada.

Las aplicaciones al follaje de *Trichoderma* spp. ha tenido éxito en otros patosistemas. En *A. porri*, la aplicación de *T. harzianum* ocasionó una reducción de la enfermedad entre 52 y 80 %, siendo similares a los obtenidos con el fungicida químico (Abo-Elyousr *et al.*, 2014). La aplicación de *T. atroviride* al follaje de frutilla demostraron que se suprime significativamente la esporulación de *Botrytis cinerea* en hojas y partes de flores, similarmente al obtenido con el fungicida fenhexamid (Card *et al.*, 2009). El estudio comprobó que *T. harzianum* redujo la incidencia de *B. cinérea* combinando competencia por azúcares, producción de compuestos no volátiles y micoparasitismo. Manzar y Singh (2020) encontraron que las aplicaciones de *Trichoderma* spp. al suelo, a la semilla y al follaje reducen de manera efectiva la antracnosis de sorgo. Álvarez *et al.* (2021), en aplicaciones foliares de *Trichoderma* spp. en quinua, hallaron que el área afectada por *Peronospora farinosa* f. sp. *chenopodii* se redujo significativamente.

## Conclusiones

Se demostró que la presencia de *T. harziaum* limita el desarrollo de *Alternaria* spp. mediante competencia por espacio y nutrientes y por la producción de compuestos volátiles. Estos podrían ser algunos de los mecanismos mediante los cuales se evidenció menor nivel de enfermedad en los ensayos *in vivo*. Los resultados de este trabajo resultan promisorios, como alternativas o herramientas complementarias al control químico.

## Referencias citadas

**Abo-Elyousr, K. A.**, Abdel-Hafez, S. I., Abdel-Rahim, I. R. (2014). Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri*. *Journal of Phytopathology*, 162(9), 567-574.

**Acuña, I.**, Bravo, R., Gutiérrez, M. (2019). Tizón tardío de la papa: Estrategia de manejo integrado con alertas temprana. [Archivo PDF]. <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/146449>

**Álvarez, S. E.**, Solís, J., Leon Ruiz, S. (22 y 23 de septiembre de 2021). Respuesta antagonista y promotora de crecimiento de cepas de *Trichoderma* spp. en genotipos de quinua (*Chenopodium quinoa*) expuestos a *Peronospora farinosa* f.sp. *chenopodii*. V Congreso Argentino de Fitopatología, 59° Reunión de la División Caribe de la APS, Corrientes, Argentina.

**Andreu, A. B.**, De Lasa, C., Suarez, P. A., Caldiz, D. O. (2017). Management of early blight (*Alternaria solani* Sorauer) in processing potato crops with new fungicides–phytopathological and physiological implicancias. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 21(2), 38-54.

**ARGENPAPA.** (14 de marzo de 2020). Argentina (Buenos Aires): Leve incremento de la superficie con papa en el Sudeste en la campaña 2020. ARGENPAPA <https://www.argenpapa.com.ar/noticia/8581-argentina-buenos-aires-leve-incremento-de-la-superficie-con-papa-en-el-sudeste-en-la-campana-2020>

**Bettiol, W.**, Silva, J. C., Castro, M. L. M. P. (2019). Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. En Meyer, M. C., Mazaro, S. M., Silva, J. C. (Eds.)

*Trichoderma: uso na agricultura.* (21-43). Embrapa.

**Card, S. D.,** Walter, M., Jaspers, M. V., Sztejnberg, A., Stewart, A. (2009). Targeted selection of antagonistic microorganisms for control of *Botrytis cinerea* of strawberry in New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, 38(2), 183-192.

**Clemente, G.,** Pérez Ramírez, N. M., Duarte, V. (22 y 23 de septiembre de 2021). Eficiencia de herramientas de control químico de Tizón Temprano de la papa (*Alternaria* spp.) en distintos ambientes del sudeste bonaerense. V Congreso Argentino de Fitopatología, 59° Reunión de la División Caribe de la APS, Corrientes, Argentina.

**Crovo, V.,** Clemente, G. E. (2015). Eficacia de fungicidas de Síntesis y biológico en base a *Trichoderma harzianum* para controlar patógenos de Semillas de soja. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 14(2), 55-68.

**Dias Suassuna, N. D.,** Silva, J. C., Bettiol, W. (2019). Uso do *Trichoderma* na cultura do algodão. En Meyer, M. C., Mazaro, S. M., Silva, J. C. (Eds.) *Trichoderma: uso na agricultura.* (361-379). Embrapa.

**Faberi, A. J.** (22 y 23 de septiembre de 2021). Efectividad de formulaciones con piraclostrobina y boscalid sobre *Alternaria solani* en papa. V Congreso Argentino de Fitopatología, 59° Reunión de la División Caribe de la APS, Corrientes, Argentina.

**Fairchild, K. L.,** Miles, T. D., Wharton, P. S. (2013). Assessing fungicide resistance in populations of *Alternaria* in Idaho potato fields. *Crop Protection*, 49, 31-39.

**Gaona, L.,** Bedmar, F., Gianelli, V., Faberi, A. J., Angelini, H. (2019). Estimating the risk of groundwater contamination and environmental impact of pesticides in an agricultural basin in Argentina. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(11), 6657-6670.

**Kumar, G., Maharshi, A.,** Patel, J., Mukherjee, A., Singh, H. B., Sarma, B. K. (2017). *Trichoderma*: a potential fungal antagonist to control plant diseases. *SATSA Mukhapatra-Annual Technical Issue*, 21, 206-218.

**Landschoot, S.,** Carrette, J., Vandecasteele, M., De Baets, B., Höfte, M., Audenaert, K., & Haesaert, G. (2017). Boscalid-resistance in *Alternaria alternata* and *Alternaria solani* populations: An emerging problem in Europe. *Crop Protection*, 92, 49-59.

**Manzar, N.,** Singh, Y. (2020). Integration of Seed Biopriming, Soil and Foliar Application of Formulations of *Trichoderma* Species for management of Anthracnose of Sorghum under Field Condition. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 9(1), 334-344.

**Mazon, S.,** Steilmann, P., de Oliveira Vargas, T. (2019). Uso do *Trichoderma* na cultura do morango. En Meyer, M. C., Mazaro, S. M., Silva, J. C. (Eds.) *Trichoderma: uso na agricultura.* (493-506). Embrapa.

**Meher, J.,** Rajput, R. S., Bajpai, R., Teli, B., & Sarma, B. K. (2020). *Trichoderma*: A Globally Dominant Commercial Biofungicide. En Manoharachary, C., Singh, H. B., & Varma, A. (Eds.). *Trichoderma: Agricultural Applications and Beyond* (pp. 195-208). Springer International Publishing.

**Monetti, M., Pedelini, R.** (2013). Evaluación de la eficiencia de los fungicidas en el control de enfermedades foliares en el cultivo de maní. [Archivo PDF].

<http://www.ciacabrera.com.ar/docs/JORNADA%2028/6-%20MONETTI.pdf>

**Monte, E., Bettiol, W., Hermosa, R.** (2019). *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. En Meyer, M. C., Mazaro, S. M., Silva, J. C. (Eds.) *Trichoderma: uso na agricultura*. (181-199). Embrapa.

**Peñalva, J.** (2018). Eficiencia e impacto ambiental de fungicidas utilizados en el control de *Alternaria* spp. en el cultivo de papa. [Tesis Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de Mar del Plata]

<http://intrabalc.inta.gob.ar/dbtw-wpd/images/Pe%C3%B1alva-J.pdf>

**Perazzoli, M., Roatti, B., Bozza, E., Pertot, I.** (2011). *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. *Biological control*, 58(1), 74-82. **Pérez, W., Forbes, G.** (2011). *Guía de identificación de plagas que afectan a la papa en la zona andina*. International Potato Center. **R**

**Core Team.** (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

**Rolando, J. L., Ramírez, D. A., Yactayo, W., Monneveux, P., Quiroz, R.** (2015). Leaf greenness as a drought tolerance related trait in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 110, 27-35.

**Sawant, I. S.** (2014). *Trichoderma*-foliar pathogen interactions. *The Open Mycology Journal*, 8(1), 58-70.

**Venancio, W. S., Venancio, R. M., de Oliveira Marzarotto, F., Boratto, V. N. M., Dallago, E. G., Boratto, I. V.** (2019). Uso do *Trichoderma* na cultura da batata. En Meyer, M. C., Mazaro, S. M., Silva, J. C. (Eds.) *Trichoderma: uso na agricultura*. (381-391). Embrapa.